

特 許 協 力 条 約

PCT

REC'D 04 JAN 2005

WIPO

PCT

特許性に関する国際予備報告 (特許協力条約第二章)

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

| | | |
|---|------------------------------------|---------------------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 POKJ10411 | 今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/JP2004/001048 | 国際出願日 (日.月.年) 03.02.2004 | 優先日 (日.月.年) 04.02.2003 |
| 国際特許分類 (IPC) Int.Cl ⁷ C12P19/28, C08B37/00 | | |
| 出願人 (氏名又は名称) 大塚化学株式会社 | | |

1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。
法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。

3. この報告には次の附属物件も添付されている。

a ☒ 附属書類は全部で 3 ページである。

☒ 補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面の用紙 (PCT規則70.16及び実施細則第607号参照)

☐ 第I欄4.及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙

b ☐ 電子媒体は全部で (電子媒体の種類、数を示す)。
配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。(実施細則第802号参照)

4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

☒ 第I欄 国際予備審査報告の基礎

☐ 第II欄 優先権

☐ 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

☐ 第IV欄 発明の単一性の欠如

☒ 第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明

☒ 第VI欄 ある種の引用文献

☐ 第VII欄 国際出願の不備

☐ 第VIII欄 国際出願に対する意見

| | | |
|--|------------------------------|---------|
| 国際予備審査の請求書を受理した日 23.08.2004 | 国際予備審査報告を作成した日 10.12.2004 | |
| 名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許庁審査官 (権限のある職員) 左海 匡子 | 4N 3038 |
| 電話番号 03-3581-1101 内線 3488 | | |

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (2004年1月)

第 I 欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

☐ この報告は、_____ 語による翻訳文を基礎とした。

それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。

- ☐ PCT規則12.3及び23.1(b)にいう国際調査
☐ PCT規則12.4にいう国際公開
☐ PCT規則55.2又は55.3にいう国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第 1, 3-18 ページ、出願時に提出されたもの
 第 2 ページ*、23.08.2004 付けで国際予備審査機関が受理したもの
 第 _____ ページ*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第 2-6 項、出願時に提出されたもの
 第 _____ 項*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 第 1, 7-12 項*、23.08.2004 付けで国際予備審査機関が受理したもの
 第 _____ 項*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☐ 図面

第 _____ ページ/図、出願時に提出されたもの
 第 _____ ページ/図*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの
 第 _____ ページ/図*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☐ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☐ 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 第 _____ ページ/図
☐ 配列表(具体的に記載すること) _____
☐ 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること) _____

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 第 _____ ページ/図
☐ 配列表(具体的に記載すること) _____
☐ 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること) _____

* 4. に該当する場合、その用紙に“superseded”と記入されることがある。

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲
請求の範囲

- 1 - 1 2

有
無

進歩性 (I S)

請求の範囲
請求の範囲

1 - 1 2

有
無

産業上の利用可能性 (I A)

請求の範囲
請求の範囲

1 - 1 2

有
無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1 : WO 03/008431 A1 (KAJIWARA Yasuhiro)

2003.01.30, 第15頁第1～22行及び第16頁第25行～第17頁第14行

文献2 : Peptide Science, 1999, Vol.1998, p.153-156

請求の範囲1-12は文献1より進歩性を有しない。

文献1には、Biochimica et Biophysica Acta (1997) Vol. 1335, No. 17, p. 23-32に記載の方法で製造された、脱脂卵黄由来の糖蛋白質に蛋白質分解酵素/ペプチダーゼを添加して糖鎖アスパラギンを製造し、糖鎖アスパラギンにFmoc基、Boc基、アリルオキシカーボネート基又はアセチル基等の脂溶性の保護基を導入し、ODS、Phenyl系、ニトリル系や、陰イオン交換系のカラム、具体的には、たとえば、ファルマシア社製モノQカラム、イヤトロン社製イアトロビーズカラムなどの逆相系カラムを用いた分取型クロマトグラフィーを用いて分離する方法が記載されており、糖鎖アスパラギンを加水分解して一部糖残基を予め切断しておくことも記載されている。

文献1に記載された発明は、脱脂卵黄より糖鎖ペプチド混合物を製造する工程においてタンパク質分解酵素を用いていない点でのみ、請求の範囲1-12に係る発明と相違する。

しかしながら、脱脂卵黄にタンパク質分解酵素を作用させて糖鎖ペプチド混合物を製造することは、本出願優先日前に周知慣用の手段である（要すれば、特開平4-117393号公報、特開平6-245784号公報、糖質シンポジウム講演要旨集(1993)15th、第89-90頁等参照）から、文献1に記載された発明において、脱脂卵黄より糖鎖ペプチド混合物を製造する際にタンパク質分解酵素を用いてみることは、当業者が容易に想到し得ることである。

請求の範囲1-10は文献2より進歩性を有しない。

文献2には、卵由来の糖蛋白質に蛋白質分解酵素を添加して糖鎖アスパラギンを製造し、糖鎖アスパラギンに脂溶性の保護基であるFmoc基を導入し、逆相を用いて分離する方法が記載されている。

文献2には、糖蛋白質が脱脂卵黄からタンパク質分解酵素を用いて得た物である旨の記載はないが、脱脂卵黄からタンパク質分解酵素を用いて糖蛋白質を製造することは、上述したとおり本出願優先日前に周知慣用の手段であるから、文献2に記載された発明において、脱脂卵黄よりタンパク質分解酵素を用いて得られた糖蛋白質を用いることは、当業者が適宜なし得る程度のことにはすぎない。

第VI欄 ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

| 出願番号 特許番号 | 公知日 (日. 月. 年) | 出願日 (日. 月. 年) | 優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年) |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------------------|
| WO 04/58984 A1 「E X」 | 14. 07. 2004 | 24. 12. 2003 | 24. 12. 2002 |

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

| 書面による開示以外の開示の種類 | 書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年) | 書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年) |
|-----------------|------------------------------|--|
|-----------------|------------------------------|--|

補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

第 V 欄の続き

請求の範囲 11-12 は文献 2 より進歩性を有しない。

反応の効率性等を勘案して、糖鎖アスパラギンを加水分解して一部糖残基を予め切断しておくことは、当業者であれば適宜なし得ることである。

の方法で得られる糖鎖アスパラギンは純度が95%や92%であり、純粋な糖鎖アスパラギンを単離しているとはいえない。また、収量も脱脂卵黄100kgからダイシアリルオリゴ糖（11糖ジシアリルオリゴ糖）を29.5gあるいは27.2gとなっている。

- 5 また、鶏卵の可溶画分より抽出される糖ペプチド（SGP：シアリルグリコペプチド）より糖鎖アスパラギンが得られることも知られている。このSGPは、11個の糖残基からなる複合型糖鎖の還元末端に、アミノ酸6残基からなるペプチド鎖のアスパラギン残基が結合した化合物である。しかし、SGPは、たとえば、瀬古ら〔バイオケミカ ビオフィジカ アクタ（*Biochem. Biophys.* *Acta*）第1335巻、第23頁（1997）〕の方法によれば、鶏卵
- 10 黄1個から約8mgしか得られないことが示されている。

〔特許文献1〕国際公開WO96/02255号公報（請求項8及び請求項10）

- 本発明の目的は、医薬品開発等の分野において有用な種々の単離された糖鎖ア
- 15 スパラギン誘導体を従来に比べて非常に容易かつ大量に得ることができる、糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法を提供することにある。

発明の開示

本発明は、以下の発明に係る。

- 20 1. 脱脂卵黄から糖鎖アスパラギン誘導体を製造する方法であって、（a）脱脂卵黄をタンパク質分解酵素により糖鎖ペプチド混合物を製造する工程、（b）糖鎖ペプチド混合物をペプチド分解酵素により糖鎖アスパラギン混合物を製造する工程、（c）糖鎖アスパラギン混合物中の糖鎖アスパラギンに脂溶性の保護基を導入し糖鎖アスパラギン誘導体混合物を製造する工程、（d）糖鎖アスパラギン
- 25 誘導体混合物を逆相系カラムを用いた分取型クロマトグラフィーに供して各糖鎖アスパラギン誘導体を分離する工程、を含む糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。

請求の範囲

1. (補正後) 脱脂卵黄から糖鎖アスパラギン誘導体を製造する方法であって、
 - (a) 脱脂卵黄をタンパク質分解酵素により糖鎖ペプチド混合物を製造する工程、
 - 5 (b) 糖鎖ペプチド混合物をペプチド分解酵素により糖鎖アスパラギン混合物を製造する工程、(c) 糖鎖アスパラギン混合物中の糖鎖アスパラギンに脂溶性の保護基を導入し糖鎖アスパラギン誘導体混合物を製造する工程、(d) 糖鎖アスパラギン誘導体混合物を逆相系カラムを用いた分取型クロマトグラフィーに供して各糖鎖アスパラギン誘導体を分離する工程、を含む糖鎖アスパラギン誘導体の
 - 10 製造方法。
2. 脱脂卵黄が鳥類の卵の卵黄を有機溶媒で脱脂処理することにより得られたものである請求の範囲第1項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
3. 糖鎖アスパラギン誘導体が11～5糖鎖アスパラギン誘導体である請求の範囲第1項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
- 15 4. 糖鎖アスパラギン誘導体が11～7糖鎖アスパラギン誘導体である請求の範囲第3項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
5. 糖鎖アスパラギン誘導体が11～9糖鎖アスパラギン誘導体である請求の範囲第4項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
6. 糖鎖アスパラギン誘導体が11糖鎖アスパラギン誘導体である請求の範囲
- 20 第5項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
7. (補正後) 脂溶性の保護基がカーボネート含有基あるいはアシル基である請求の範囲第1項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
8. (補正後) 脂溶性の保護基がカーボネート含有基である請求の範囲第7項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。
- 25 9. (補正後) 脂溶性の保護基がFmoc基あるいはBoc基である請求の範囲第1項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。

10. (補正後) 脂溶性の保護基がFmoc基である請求の範囲第9項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。

11. (補正後) (b) で得られる糖鎖アスパラギン混合物に含まれる糖鎖ア
5 スパラギンを予め加水分解して一部糖残基を切断しておく請求の範囲第1項記載
の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。

12. (補正後) (c) で得られる糖鎖アスパラギン誘導体混合物に含まれる
糖鎖アスパラギン誘導体を予め加水分解して一部糖残基を切断しておく請求の範
囲第1項記載の糖鎖アスパラギン誘導体の製造方法。